

Title	UVB Damage and Photoreactivation in the Two-spotted Spider Mite, Tetranychus urticae( Abstract_要旨 )
Author(s)	Murata, Yasumasa
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2017-03-23
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k20422">https://doi.org/10.14989/doctor.k20422</a>
Right	学位規則第9条第2項により要約公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

( 続紙 1 )

京都大学	博士（農学）	氏名	村田 康允
論文題目	UVB Damage and Photoreactivation in the Two-spotted Spider Mite, <i>Tetranychus urticae</i> (ナミハダニにおけるUVB損傷と光回復効果)		
(論文内容の要旨)			
<p>紫外線（UV；波長：200～400 nm）はDNAの変性や活性酸素の発生を通じて生物にしばしば有害な影響を及ぼし、一般に波長が短いほど有害とされる。太陽光に含まれる紫外線の内、UVC（200～280 nm）は上空ですべて吸収される。UVB（280～315 nm）もオゾン層でほとんどが吸収されるが、一部が地上に届いて生物に影響を及ぼす。太陽光中の構成比率と生物影響の大きさから、自然界では特に300 nm付近のUVBによる影響が大きいとされている。</p> <p>陸生の動物はUV損傷から守られていると考えられていたが、植食性のハダニが太陽光中のUVBにより致命的な影響を受けることが明らかになってきた。本研究で材料としているナミハダニは極めて広食性で、多くの園芸作物を加害し、さらに多数の殺ダニ剤に対して抵抗性を獲得していることから、世界的な重要害虫となっている。このため、現在、施設栽培の現場ではUVBを利用したナミハダニ防除技術の開発が進められている。</p> <p>UVBによる様々な生物影響の中で重要なものの一つは、シクロブタン型ピリミジン二量体（CPD）や6-4光産物（6-4PP）などの形成を通じて発生するDNA損傷であり、DNAの転写や複製を妨げ、細胞死や突然変異を招く。バクテリアや水生生物、植物などでは既にDNA損傷に関する多くの知見が得られている。それらの生物では、さらに光修復酵素によるDNA損傷の修復機構が知られている。しかし、陸生動物でのそれらに関する知見は極めて少ない。</p> <p>本研究は、UVBに生物学的ダメージの分析（第3章）、光回復反応の分析（第4章）、DNA修復機構の分析（第5章）、UVBによる発育ステージ特異的死亡要因の分析（第6章）を通じて、UVBが陸生植食者であるナミハダニに及ぼす生物影響とそれに対する適応機構を検証したものであり、その成果は以下の様にまとめられる。</p> <p>第1章と第2章には、それぞれ研究の背景と研究材料と機器が記されている。</p> <p>第3章では、UVB照射強度と時間がハダニに及ぼす影響を、発育ステージ（卵、幼虫、第3静止期雌、雌成虫）ごとに、強度と時間を様々に変化させてUVBを照射することで実験的に分析している。このとき、ハダニの死亡率はUVBの照射強度に関わらず積算照射量（照射強度×時間）に依存して変化すること、さらに死亡率をプロビット変換することにより両者間に直線的な相関が得られた。この関係は極めて弱い照射強度においても維持されており、UVBによる致命的効果において相反則が成立することが明らかになった。この研究成果は、UVBによるナミハダニ防除技術の開発において、照射強度と時間を決定するための基盤的知見となった。その一方で、太陽光による致死効果を検証した先行研究から推測されるナミハダニ卵のLD<sub>50</sub>値は、本章で得られたLD<sub>50</sub>値の86倍であり、両者の間に大きな違いが生じた。太陽光には強力な可視光やUVAが含まれていることから、この相違の要因として光回復の影響が示唆された。</p> <p>そこで、第4章ではナミハダニの卵を中心に、光回復現象が検証された。UVB照射処理後に暗黒条件下で飼育された卵のふ化率が13%であったのに対して、UVB照射直後に90分間可視光を照射された卵ではふ化率が65%に上昇し、光回復現象が実証された。また、可視光の強度及び照射時間を変化させることで、光回復においても相反則が成立することが明らかになった。さらに本研究では、UVB照射後に可視光を照射するまでのタイムラグの効果についても調べられている。この結果、タイムラグが大きくなるに連れて光回復効果が低下し、4時間以上のタイムラグにより光回復効果が消</p>			

失することが明らかになった。この研究成果は、防除技術開発の現場においてUVB照射に適した時間帯を決定するのに役立てられている。その一方で、幼虫では4時間のタイムラグでは問題なく光回復することが明らかになった。また、ナミハダニの光回復に効果を持つ波長はUVAから緑色（ $\leq 500\text{ nm}$ ）であることが示された。

DNAの光修復は、一般的にCPDを修復するCPDフォトリアーゼと6-4PPを修復する(6-4)フォトリアーゼに担われており、ナミハダニではゲノム上にCPDフォトリアーゼ遺伝子の存在が知られている。第5章では、幼虫にUVBを照射してCPDと6-4PPの生成を確認した後、可視光照射の有無によるCPDおよび6-4PP量の変化がモニターされた。UVB照射はCPDと6-4PPの生成を促進し、可視光照射によってCPDは減少した。一方、ゲノム上で修復酵素遺伝子の存在が知られていない6-4PPについては可視光照射による現象は認められなかった。さらに、CPDフォトリアーゼとヌクレオチド除去修復に関わるXPA遺伝子について調べられた。予想に反してCPDフォトリアーゼ遺伝子の発現が変化しなかったのに対して、XPAはUVBおよび可視光照射によって遺伝子発現が上昇した。したがって、必ずしも理論通りの結果とはならなかったが、これら修復酵素遺伝子ならびに酵素活性の発現に関して新たな可能性が提示された。

第6章では、幼虫にUVBを照射した際、直後には健全にふるまうことが多い観察結果に基づき、発育経過に伴って死に至る機構の解明に挑んでいる。照射された幼虫が成虫に至るまでに100%死亡するUVBを幼虫に照射し、死亡した発育ステージを調べたところ、80%が次の発育ステージであり、その後脱皮に至る第一静止期において、発育停止あるいは脱皮失敗により死亡した。このことから、UVBによるDNA損傷が静止期以降の発育に必須な機構を破壊していると考え、幼虫期のUVB照射が第一静止期の遺伝子発現に及ぼす影響をRNA-seqによるトランスクリプトーム解析により調べた。その結果、キューティクルプロテインやキチンの合成、分解に関わる遺伝子など、脱皮に伴う表皮の分解と再合成に関連する遺伝子群において特徴的な発現変化が確認され、静止期特異的死亡要因として示唆された。

第7章（総合考察）では、ナミハダニのUVB損傷と光回復効果について、生態学、生理学および農業効率化への応用ダニ学という3つの観点から考察されている。UVと可視光の照射による生存率の大きな変化は、太陽光が陸上生態系におけるナミハダニの適応度に大きな影響を及ぼしていることを示しており、本研究ではその機構の一部が検証され、さらに詳細な生理機構解明への足掛かりも示された。また、本研究から得られた知見は世界的に重要な農業害虫であるナミハダニの管理におけるUVB利用という斬新な方法論を現実のものとするのに大きく貢献している。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

太陽光は地球上の自然生態系において必須のエネルギー源であると同時に、その強力なエネルギーにより様々なストレスを生物にもたらす。UVBによるDNA損傷は代表的なストレスの一つであり、水生生物やバクテリアなどで多くの研究が報告されている一方で、太陽光下に棲息している陸生の動物はそれらのストレスから比較的によく守られていると考えられてきた。しかし、近年の研究から、植食性であり、重要な農業害虫であるハダニ類とその天敵であるカブリダニ類などにおいて、UVBによる生物影響が生存に大きく影響することが明らかとなり、より詳細な知見が求められている。

本研究は、陸上の小型節足動物であり、世界的に最も重要な農業害虫の一種であるナミハダニを用いて、UVB損傷とDNA修復による光回復を実証したものであり、さらに現在実用化研究が進められているUVBによるハダニ防除技術の基盤的知見となっている。本論文の評価すべき点は以下の通りに要約できる。

1. UVBによる生物影響を室内の厳密な実験条件下で実証し、相反則が適用できることを証明した。
2. 光回復効果を実証し、これがナミハダニのUVB耐性に大きく寄与していることを明らかにした。
3. UVBによって誘発するDNA損傷と修復の証拠を提示し、陸生のダニ類におけるDNAの損傷と修復機構の研究の端緒を開いた。
4. UVBによる発育ステージ特異的な死亡を明らかにし、表皮組織の代謝関連遺伝子の機能がUVBによって破壊されている可能性を提示し、この分野における研究の発展の可能性を示した。

以上のように、本論文はこれまでUVによる生物影響の研究材料としては殆ど扱われていなかった陸上小型節足動物を用いてUVB損傷および光回復効果について実証したものであり、生態情報開発学、動物生態生理学、応用ダニ学、害虫防除学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成29年1月18日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）